



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

2011/2012

Marco Frederico Oliveira Marques  
Insuficiência Cardíaca e Stresse  
Oxidativo – Implicações Terapêuticas

março, 2012

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

Marco Frederico Oliveira Marques  
Insuficiência Cardíaca e Stresse Oxidativo  
– Implicações Terapêuticas

**Mestrado Integrado em Medicina**

**Área: Farmacologia e Terapêutica**

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:**  
**Professor Doutor António Albino Coelho Marques Abrantes Teixeira**  
**E sob a Coorientação de:**  
**Doutora Teresa Maria de Jesus Teixeira de Sousa**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:**  
**Revista Portuguesa de Cardiologia**

março, 2012

FMUP

Eu, Marco Frederico Oliveira Marques, abaixo assinado, nº mecanográfico 060801073, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 28/03/2012

Assinatura: Marco Frederico Oliveira Marques

**Nome:** Marco Frederico Oliveira Marques

**Endereço eletrónico:** med06073@med.up.pt **Telefone ou Telemóvel:** 916741400

**Número do Bilhete de Identidade:** 13197056

**Título da Dissertação:**

Insuficiência Cardíaca e Stresse Oxidativo – Implicações Terapêuticas

**Orientador:**

Professor Doutor António Albino Coelho Marques Abrantes Teixeira

**Ano de conclusão:** 2012

**Designação da área do projeto:**

Farmacologia e Terapêutica

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 28/03/2012

Assinatura: Marco Frederico Oliveira Marques

**Agradecimentos:**

Ao Professor Doutor António Albino Coelho Marques Abrantes Teixeira, à Doutora Teresa Maria de Jesus Teixeira de Sousa, e à Dra. Marta Fernanda Reina Couto por toda a disponibilidade, pela preciosa ajuda na definição do objeto de estudo, pela exigência de método e rigor, pela revisão crítica do texto, pelos comentários, esclarecimentos, sugestões e opiniões.

Aos meus pais, pela força e incentivo dadas nos momentos mais complicados.

**Primeira página:**

**Título completo:** Insuficiência Cardíaca e Stresse Oxidativo – Implicações Terapêuticas

**Full title:** Heart Failure and Oxidative Stress – Therapeutic Considerations

**Nome do autor:** M. Marques

**Afiliação:** Departamento de Farmacologia e Terapêutica, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal

**Financiamento:** Universidade do Porto

**Contato para correspondência:** Marco Frederico Oliveira Marques

**Correio eletrónico do contato:** med060673@med.up.pt

**Morada:**

Departamento de Farmacologia e Terapêutica, piso 3, Centro de Investigação Médica

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto,

Rua Dr. Plácido da Costa, 91,

4200-450 Porto, Portugal

**Número de palavras:** 4947

## **Resumo:**

*Introdução e objetivos:* A avaliação de marcadores de stresse oxidativo (SO) poderá ser útil para estratificar o risco da IC e monitorizar a terapêutica. O objetivo deste estudo foi avaliar o SO em doentes com IC crónica e a sua relação com marcadores de IC. Avaliaram-se ainda os efeitos dos bloqueadores  $\beta$  e do alopurinol no estado redox.

*Métodos:* Avaliaram-se marcadores de IC e de SO em 60 doentes (classes New York Heart Association, NYHA, I a IV). Os marcadores de IC e o ácido úrico (UA) foram quantificados num multianalisador automático. A capacidade antioxidante do plasma (TAS), concentração de mieloperoxidase (MPO),  $H_2O_2$  e isoprostanos foram avaliados utilizando *kits* comerciais. A atividade da MPO foi analisada espectralmente.

*Resultados:* Constituíram-se dois grupos de doentes (IC ligeira a moderada, classes NYHA I-II; IC grave, classes NYHA II/III-IV). Observou-se um aumento significativo do peptídeo natriurético de tipo B, troponina, cistatina C, TAS, UA e atividade da MPO na IC grave. O UA e a TAS apresentaram correlação com marcadores de IC. Observou-se ainda correlação entre o UA e a atividade da MPO. Não foram observados efeitos dos bloqueadores  $\beta$  ou do alopurinol no estado redox.

*Conclusões:* A IC grave está associada a um aumento da TAS, do UA e da atividade da MPO. A correlação positiva da TAS e do UA com a troponina evidencia o valor prognóstico destes marcadores. A hiperuricemia parece contribuir para o aumento da atividade da MPO. Não foram evidenciados efeitos antioxidantes dos bloqueadores  $\beta$  ou do alopurinol.

**Palavras-chave:**

Insuficiência cardíaca; stresse oxidativo; capacidade antioxidante total; ácido úrico; mieloperoxidase; bloqueadores  $\beta$ ; alopurinol.

**Abstract:**

*Introduction and goals:* The evaluation of oxidative stress markers could be useful in risk stratification of heart failure (HF) or in monitoring its therapy. We aimed at evaluating the oxidative status of chronic HF patients and at correlating it with established markers of cardiac and renal dysfunction. We also analyzed if  $\beta$ -adrenergic receptor blockers or allopurinol alter the redox status of these patients.

*Methods:* We evaluated markers of HF and oxidative stress in 60 patients with chronic HF (New York Heart Association, NYHA, classes I to IV). HF markers and uric acid (UA) were quantified in an automated biochemical multianalyzer. Total antioxidant status (TAS), myeloperoxidase (MPO) concentration,  $H_2O_2$  and isoprostanes were evaluated using commercial kits. MPO activity was assessed spectrophotometrically.

*Results:* Patients were divided into two groups (mild HF, NYHA classes I-II; severe HF, NYHA classes III-IV). A significant rise of BNP, troponin, cystatin C, TAS, UA and MPO activity was observed in severe HF patients. UA and TAS were correlated with markers of HF. A significant correlation between UA and MPO activity was also observed. Neither  $\beta$ -blockers nor allopurinol had effects on the redox status of HF patients.



*Conclusions:* Severe HF is associated with increased TAS, uric acid and MPO activity. The correlation of TAS and UA with established markers of HF such as troponin suggests that these redox markers may be useful as prognostic tools in HF. Hyperuricemia appears to contribute to the increase of MPO activity. Furthermore,  $\beta$ -blockers or allopurinol lacked antioxidant effects in HF patients.

**Keywords:**

Heart failure; oxidative stress; total antioxidant status; uric acid; myeloperoxidase;  $\beta$ -blockers; allopurinol.

<b>Abreviatura</b>	<b>Significado</b>	<b>Meaning</b>
IC	Insuficiência cardíaca	Heart failure
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona	Renin-angiotensin-aldosteron system
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral $\alpha$	Tumor necrosis factor $\alpha$
NO	Monóxido de azoto	Nitric oxide
ROS	Espécies reativas de oxigênio	Reactive oxygen species
SO	Stresse oxidativo	Oxidative stress
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio	Hydrogen peroxide
XO	Xantina oxidase	Xanthine oxidase
NOX	NADPH oxídase	NADPH oxidase
NOS	Sintétase do NO	NO synthetase
MPO	Mieloperoxídase	Myeloperoxidase
UA	Ácido úrico	Uric acid
ADN	Ácido desoxirribonucleico	Deoxyribonucleic acid
IECA	Inibidor da enzima de conversão da angiotensina	Angiotensin-converting-enzyme inhibitor
BNP	Peptídeo natriurético tipo B	B-type natriuretic peptide

---

NYHA	New York Heart Association	New York Heart Association
BHT	Butil-hidroxi-tolueno	Butylhydroxytoluene
TAS	Capacidade antioxidante total	Total antioxidant status
SEM	Erro padrão da média	Standard error of the mean
ARA	Antagonista dos recetores de angiotensina	Angiotensin receptor blockers

---

## **Introdução:**

A insuficiência cardíaca (IC) é uma doença grave com grande prevalência no Mundo, associando-se a uma elevada morbimortalidade e também a custos avultados na área da saúde. Em Portugal, tem uma prevalência estimada em 4,36% na população com idade superior a 25 anos, 4,33% em homens e 4,38% em mulheres <sup>(1)</sup>.

Esta patologia define-se como uma síndrome que ocorre em indivíduos que, devido a defeitos herdados ou adquiridos na estrutura ou função cardíaca, desenvolvem um conjunto de sinais (edemas e crepitações) e sintomas (fadiga e dispneia) que levam a internamentos sucessivos e diminuição da esperança e qualidade de vida <sup>(2)</sup>. Inicia-se por uma quebra na contratilidade miocárdica ou por um aumento da carga hemodinâmica do coração. Consequentemente são ativados mecanismos homeostáticos de compensação, tais como estimulação cardíaca (aumento do inotropismo, cronotropismo e lusitropismo), vasoconstrição arteriolar periférica, mitogénese e retenção de água e sódio no rim, para a correção das descidas do débito cardíaco e da perfusão orgânica. Existem também mecanismos contrarreguladores que medeiam efeitos opostos (diminuição do estímulo cardíaco, relaxamento vascular, natriurese e inibição do crescimento celular), limitando o aparecimento de sintomas nas fases iniciais da IC <sup>(3)</sup>. Os mecanismos de compensação têm uma capacidade finita para sustentar o desempenho cardíaco, acabando por contribuir para o agravamento da doença.

A IC é desencadeada, mantida e agravada por três vias principais: mecanismos homeostáticos (mediados por neuro-hormonas), resposta inflamatória e remodelação ventricular. Nos processos homeostáticos intervêm o sistema nervoso simpático, o sistema

renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), a hormona anti-diurética e a endotelina. Na resposta inflamatória intervêm as citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e as interleucinas 1 e 6, e também outras moléculas como a proteína reativa C, o monóxido de azoto (NO) e as espécies reativas de oxigénio (ROS, *reactive oxygen species*). As respostas homeostática e inflamatória surgem rapidamente, após o início da disfunção cardíaca. A remodelação ventricular tem uma evolução lenta e caracteriza-se por alterações da estrutura (hipertrofia ventricular, apoptose dos cardiomiócitos e fibrose intersticial) e da função cardíaca (disfunção contrátil) para as quais contribuem fatores mecânicos e/ou genéticos, neuro-hormonas, mediadores inflamatórios e também as ROS <sup>(3)</sup>.

Nos últimos anos, vários estudos têm sublinhado o papel das ROS e do stresse oxidativo (SO) na progressão da IC <sup>(4-8)</sup>. O SO resulta do desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, com prevalência de um estado pró-oxidante potencialmente prejudicial para a sinalização e função celulares <sup>(5, 9, 10)</sup>. As ROS incluem espécies radicais, como o superóxido e o radical hidroxilo, e espécies não radicais, como o peróxido de hidrogénio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e o peroxinitrito <sup>(9, 11)</sup>. Entre os responsáveis pela formação de ROS destacam-se as enzimas da respiração mitocondrial, a xantina oxídase (XO), as NADPH oxidasas (NOX), as sintétases do NO (NOS) e a mieloperoxidase (MPO), sendo as NOX as principais fontes de superóxido nas células vasculares e cardíacas <sup>(8)</sup>. A produção de ROS pode também resultar da auto-oxidação de catecolaminas <sup>(5)</sup>. A ação das ROS pode ser contrabalançada pelas defesas antioxidantes que podem ser enzimáticas, como a superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, e não enzimáticas como a glutathione, as vitaminas C e E, o ácido úrico (*uric acid*, UA), a bilirrubina, entre outras <sup>(10)</sup>. Existem, contudo, diversos estímulos como a angiotensina II, as catecolaminas, a endotelina, o TNF- $\alpha$  e forças

mecânicas que conseguem induzir a formação excessiva de ROS no coração <sup>(5)</sup>. O SO resultante pode contribuir para a evolução da IC por vários mecanismos <sup>(6, 12, 13)</sup>. Sabe-se, por exemplo, que o radical superóxido reage com o NO produzido pelo endotélio, levando à perda da sua bioatividade vascular <sup>(6)</sup>. O peroxinitrito gerado nesta reação pode ainda amplificar a disfunção vascular, degradando o cofator da NOS endotelial, fazendo com que esta enzima passe a produzir superóxido em vez de NO <sup>(13)</sup>. O SO é ainda responsável pela inativação de diversas enzimas, peroxidação lipídica e lesão do ácido desoxirribonucleico (ADN), causando défice energético e morte dos cardiomiócitos por apoptose e necrose <sup>(6)</sup>. As ROS podem também modular mecanismos de sinalização celular contribuindo para a inflamação, hipertrofia, fibrose e disfunção contrátil do coração <sup>(14)</sup>.

A evolução e prognóstico da IC dependem da interação entre fatores genéticos, neurohormonais, inflamatórios e bioquímicos <sup>(4)</sup>. Tem havido um interesse clínico crescente na identificação e avaliação de biomarcadores sistêmicos e urinários da insuficiência cardíaca. Um biomarcador deve ter três características: a rapidez e custo da sua medição devem ser razoáveis; deve fornecer informação não obtida pelo exame físico do doente; e a sua determinação deve ajudar a uma decisão médica <sup>(15)</sup>. O peptídeo natriurético do tipo B (*B-type natriuretic peptide*, BNP) é um marcador já estabelecido de gravidade e mau prognóstico na IC. A concentração de BNP aumenta com o estiramento ventricular, sabendo-se que estadios *New York Heart Association* (NYHA) mais avançados de IC correspondem a concentrações mais elevadas de BNP no plasma <sup>(16)</sup>. A troponina T é também um marcador sensível e específico de lesão miocárdica, usado na estratificação do risco e prognóstico de síndromes coronárias agudas <sup>(4)</sup>. Elevações na concentração das troponinas T e I também se verificam em doentes com IC sem isquemia miocárdica concomitante <sup>(17)</sup>. O facto de, muitas

vezes, uma lesão cardíaca ter manifestações renais e vice-versa remete-nos para o conceito de síndrome cardiorrenal <sup>(18)</sup> que traduz um agravamento concomitante das funções cardíaca e renal. A cistatina C é um novo marcador de lesão renal, mas também se encontra aumentada num contexto de lesão miocárdica, provavelmente protegendo a matriz da ação da catepsina B e de outras proteases. A sua relação com a doença cardíaca torna promissor o seu uso como marcador <sup>(19)</sup>.

O SO é frequentemente avaliado pela quantificação de marcadores indiretos, já que a instabilidade da maioria das ROS dificulta a sua medição direta. Como exemplos de biomarcadores plasmáticos e/ou urinários de SO temos os produtos de peroxidação lipídica (isoprostanos <sup>(20)</sup>), a concentração e atividade de enzimas pró-oxidantes (MPO <sup>(21)</sup>, XO <sup>(22)</sup>) e a concentração total de oxidantes ou de antioxidantes específicos <sup>(23)</sup>. O UA, embora seja considerado um marcador independente de risco cardiovascular, pode também funcionar como um indicador de SO uma vez que o seu aumento resulta de uma elevação da atividade da XO <sup>(22)</sup>. Recentemente tem também crescido o interesse na avaliação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sabe-se que o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> contribui para a patogénese de várias doenças cardiovasculares como a aterosclerose e hipertensão arterial mas ainda não foi estudado o seu papel na IC <sup>(24, 25)</sup>. Além dos seus efeitos na reatividade e estrutura vascular, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é também um substrato para a produção de espécies oxidantes pela MPO <sup>(26)</sup>. O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> apresenta a vantagem de ter maior estabilidade do que os radicais livres, facilitando a sua determinação <sup>(24, 25)</sup>. A excreção urinária de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tem sido usada como marcador do SO renal, o que poderá ter interesse na avaliação de doentes com síndrome cardiorrenal <sup>(27)</sup>.

Alguns fármacos usados com sucesso na terapêutica da IC, incluindo os bloqueadores  $\beta$ , o alopurinol, os inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECAs) e as estatinas

<sup>(28)</sup> apresentam propriedades antioxidantes que poderão contribuir para os seus efeitos benéficos na patologia cardíaca <sup>(12)</sup>. Vários estudos têm investigado os efeitos protetores do alopurinol na IC. A inibição da XO pelo alopurinol, com consequente redução da produção de superóxido, parece contrariar a disfunção endotelial causada pela inativação do NO e formação de peroxinitrito. Têm ainda sido descritos efeitos benéficos do alopurinol na contratilidade cardíaca <sup>(22)</sup>. Alguns bloqueadores  $\beta$  exercem também efeitos protetores contra o SO. Por exemplo, o carvedilol parece ter não só efeitos antioxidantes diretos, resultantes da sua capacidade para captar ROS, mas também efeitos inibitórios na produção destas moléculas <sup>(29)</sup>. O nebivolol é um bloqueador  $\beta$  diferente, visto que consegue induzir a libertação de NO endotelial <sup>(30)</sup>. Além disso, reduz o SO devido às suas capacidades de captar ROS <sup>(31)</sup>, de inibir as NOX e de prevenir a atividade disfuncional da NOS endotelial.

A avaliação de marcadores de SO poderá ter utilidade não só para o diagnóstico e estratificação do risco da IC, mas também para a monitorização da eficácia da terapêutica <sup>(4)</sup>. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o estado redox de doentes com IC e a sua relação com o BNP e troponina, marcadores de disfunção cardíaca, e com a cistatina C (marcador de lesão renal associada à IC). Avaliaram-se ainda os efeitos dos bloqueadores  $\beta$  e do alopurinol na capacidade redox destes doentes.

## **Métodos:**

Foram selecionados 60 doentes com IC (classes funcionais NYHA I a IV), a partir da consulta de IC do Hospital de S. João, entre Setembro de 2009 e Setembro de 2011. O



protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na Saúde do Hospital de S. João e foi obtido o consentimento informado dos doentes.

No dia da convocatória, os doentes foram avaliados e efetuou-se o registo dos dados demográficos, história clínica, terapêutica, e exame físico. Procedeu-se ainda à colheita de sangue venoso. A urina de 24h foi recolhida pelos doentes no dia anterior e entregue no dia da convocatória.

#### *Processamento das amostras:*

O sangue foi centrifugado num período máximo de 2h após a colheita e o plasma obtido foi repartido por alíquotas para a avaliação dos diferentes marcadores. A urina de 24h foi também distribuída por alíquotas. Para evitar a oxidação ulterior das amostras destinadas à avaliação de isoprostanos, adicionou-se o butil-hidroxi-tolueno (BHT 0,005%). Todas as amostras foram armazenadas a – 80°C.

#### *Avaliação do BNP, troponina e cistatina C:*

O BNP, a troponina I e a cistatina C foram determinados no plasma, por ensaios imunoenzimáticos num multianalisador bioquímico automático.

#### *Avaliação dos marcadores de SO:*

A capacidade antioxidante total (TAS, *total antioxidant status*) foi avaliada no plasma por um ensaio espectralométrico em leitor de placas, utilizando um *kit* comercial (Antioxidant Assay kit, Cayman Chemical). Este ensaio avalia a atividade antioxidante combinada de todos os compostos hidrossolúveis e lipossolúveis presentes no plasma,

incluindo vitaminas, UA, bilirrubina, albumina e glutathione. A bilirrubina e albumina plasmáticas e o UA sérico foram quantificados num multianalisador bioquímico.

A concentração da MPO foi avaliada no plasma por um ensaio imunoenzimático, utilizando um *kit* comercial (Myeloperoxidase Immunoassay Test Kit, BioCheck, Oxis Research) e um leitor de placas. A atividade da MPO foi avaliada pela monitorização da oxidação da tetrametilbenzidina a 655 nm, num leitor de placas.

O  $H_2O_2$  foi quantificado na urina de 24h, por um ensaio fluorimétrico, utilizando um *kit* comercial (Amplex Red Hydrogen Peroxide Assay *kit*, Molecular Probes) e um fluorímetro de placas. Os isoprostanos foram também quantificados na urina de 24h por um ensaio imunoenzimático, utilizando um *kit* comercial (Enzyme Immunoassay for Urinary Isoprostanes, Oxford Biomedical Research) e um leitor de placas. A creatinina urinária foi quantificada num multianalisador automático. A excreção urinária de  $H_2O_2$  e de isoprostanos foi expressa em função da concentração de creatinina na urina.

#### *Análise estatística:*

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (*standard error of the mean*, S.E.M.). As diferenças entre dois grupos foram analisadas pelo teste t de Student para amostras não emparelhadas ou pelo teste de Mann Whitney U, de acordo com a distribuição normal ou não normal da amostra, respetivamente. Foi efetuado o teste ANOVA para comparações múltiplas para analisar as diferenças entre três grupos. As correlações entre variáveis foram testadas pela correlação de Pearson, no caso de as variáveis apresentarem uma distribuição normal, ou pela correlação de Spearman, se pelo

menos uma das variáveis apresentasse uma distribuição não normal. Foram considerados significativos os valores de p inferiores a 0,05.

## **Resultados:**

*Caraterísticas demográficas da população:* As caraterísticas demográficas da população estudada encontram-se resumidas na *Tabela 1*. Foram convocados 60 doentes, havendo um predomínio de doentes do género masculino e de classes funcionais NYHA I, I/II e II. Não foi possível convocar doentes de classe NYHA IV. A média de idades dos doentes era próxima dos 70 anos. A etiologia isquémica foi a mais comumente encontrada, estando presente em 23 indivíduos (38% da população), enquanto em 8 doentes (13%) a etiologia era desconhecida ou encontrava-se ainda em estudo. Só 25% dos doentes é que se encontravam medicados com alopurinol, enquanto 50 doentes (83%) tomavam um bloqueador  $\beta$  e destes, 30 estavam medicados com carvedilol, 14 com bisoprolol e 5 com nebivolol. Não foi possível saber qual o bloqueador  $\beta$  prescrito a um dos doentes.

*Caraterísticas demográficas agrupadas por gravidade da IC (Tabela 2):* Foram constituídos dois grupos de doentes (IC ligeira a moderada vs IC grave) para a análise dos resultados. Considerou-se IC ligeira a moderada os doentes correspondentes a classes NYHA I, I/II ou II, e IC grave doentes em NYHA II/III, III e III/IV. Verificou-se que o grupo dos doentes com IC grave apresentava uma média de idades significativamente superior à observada no grupo dos doentes com IC ligeira a moderada ( $p=0,01$ ). O peso encontrado foi menor nos doentes com IC grave, embora este resultado não seja estatisticamente significativo ( $p=0,055$ ). Observou-se que todas as etiologias tinham maior representação na IC moderada,

com exceção da etiologia isquêmica, em que a distribuição era semelhante (13 doentes na IC moderada vs 10 doentes na IC grave) e também da cardiomiopatia idiopática (4 doentes na IC moderada vs 6 doentes na IC grave).

*Marcadores de IC (Figura 1):* Os doentes com IC grave apresentaram um aumento significativo da concentração plasmática de BNP ( $p<0,001$ ) e de troponina ( $p=0,008$ ), comparativamente com os doentes com IC ligeira a moderada.

*Marcador de lesão renal na IC (Figura 1):* Os doentes com IC grave apresentaram uma concentração plasmática de cistatina C significativamente mais elevada do que os doentes com IC ligeira a moderada ( $p=0,011$ ).

*TAS e outros antioxidantes plasmáticos (Figura 2):* Os doentes com IC grave apresentaram um aumento significativo da TAS plasmática ( $p=0,011$ ) e do UA sérico ( $p=0,033$ ) comparativamente com os doentes com IC ligeira a moderada. Não se observaram diferenças na concentração plasmática de albumina ou de bilirrubina entre os grupos. Analisou-se ainda a correlação entre a TAS e os antioxidantes UA, bilirrubina e albumina (Tabela 3). Os valores de TAS, bilirrubina e albumina apresentaram uma distribuição normal, tendo sido efetuada a análise da correlação de Pearson para estas variáveis. Os valores de UA não apresentaram uma distribuição normal e por isso a sua correlação com a TAS foi analisada pela correlação de Spearman. Realizou-se ainda a análise da correlação de Pearson entre a TAS e o UA após transformação dos valores de UA em logaritmo. Apesar de não se terem verificado correlações estatisticamente significativas, observou-se uma tendência para o aumento do TAS com o aumento do logaritmo da concentração do UA ( $r=0,322$ ;

$p=0,083$ ), assim como uma tendência para uma correlação inversa entre a concentração de albumina e a TAS ( $r=-0,360$ ;  $p=0,066$ ) (*Tabela 3*).

*Concentração e atividade da MPO (Figura 3):* Não se observaram diferenças na concentração de MPO entre os doentes com IC ligeira a moderada e os doentes com IC grave. No entanto, a atividade da MPO encontrava-se significativamente aumentada na IC grave ( $p=0,024$ ).

*Excreção urinária de  $H_2O_2$  e isoprostanos (Figura 4):* Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas na excreção urinária de  $H_2O_2$  e de isoprostanos, apesar de haver uma tendência para um aumento da excreção de  $H_2O_2$  e de isoprostanos nos doentes com IC grave.

*Correlação entre BNP, troponina e cistatina C:* Observaram-se correlações positivas estatisticamente significativas entre o BNP e a troponina e entre o BNP e a cistatina C. A cistatina C apresentou ainda correlação positiva significativa com a troponina (*Tabela 4*).

*Correlação do BNP com os marcadores de SO:* Observou-se uma correlação positiva muito significativa entre o BNP e o UA. Contudo, não foram evidenciadas correlações entre o BNP e outros marcadores de SO (*Tabela 4*).

*Correlação da troponina com os marcadores de SO:* Verificou-se uma correlação positiva significativa entre a troponina e a TAS e também entre a troponina e o UA. Não se observaram correlações entre a troponina e outros marcadores de SO (*Tabela 4*).

*Correlação da cistatina C com a excreção urinária de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou de isoprostanos:* Não se observaram correlações entre a cistatina C e a excreção urinária de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou de isoprostanos (Tabela 4).

*Outras correlações:* Observou-se uma correlação positiva significativa entre a concentração sérica de UA e a atividade de MPO no plasma (Tabela 4).

*Efeito dos bloqueadores  $\beta$  no BNP, troponina e cistatina C (Figura 5):* Não se verificaram diferenças significativas na concentração plasmática de BNP, troponina e cistatina C entre os doentes não tratados ou tratados com bloqueadores  $\beta$ . No entanto, os doentes tratados com bloqueadores  $\beta$  apresentaram valores de BNP, troponina e cistatina C tendencialmente mais baixos do que os doentes não tratados com estes fármacos. Não se observaram diferenças entre os efeitos do carvedilol, bisoprolol e nebivolol no BNP, troponina e cistatina C (Tabela 5).

*Efeito dos bloqueadores  $\beta$  nos marcadores de SO (Figura 6):* Não se verificaram diferenças significativas nos marcadores de SO entre os doentes não tratados ou tratados com bloqueadores  $\beta$ . No entanto, os doentes tratados com bloqueadores  $\beta$  apresentaram valores tendencialmente mais baixos de UA, atividade da MPO, excreção urinária de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e de isoprostanos do que os doentes não tratados com estes fármacos. Não se observaram diferenças entre os efeitos do carvedilol, bisoprolol e cistatina C (Tabela 5) nos marcadores de SO.

*Efeito do alopurinol no BNP, troponina e cistatina C (Figura 7):* Não se verificaram diferenças significativas na concentração plasmática de BNP, troponina e cistatina C entre os doentes não tratados ou tratados com alopurinol.

*Efeito do alopurinol nos marcadores de SO (Figura 8):* Não se observaram diferenças significativas nos marcadores de SO entre os doentes não tratados ou tratados com alopurinol.

## **Discussão:**

O SO, resultante de um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes, tem sido apontado como um mecanismo importante para o desenvolvimento e progressão de muitas doenças <sup>(10)</sup>. Nos últimos anos, vários estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram a ativação do SO no sistema cardiovascular em resposta a estímulos neuro-hormonais e inflamatórios <sup>(32, 33)</sup>. Contudo, ainda não há consenso relativamente ao papel das ROS na patogénese da IC humana apesar de alguns estudos evidenciarem alterações de marcadores de SO em doentes com IC, nomeadamente o aumento de produtos de peroxidação lipídica no plasma e fluido pericárdico <sup>(5-8)</sup>.

O nosso estudo mostra que o agravamento da IC está associado a um aumento da capacidade antioxidante plasmática, da concentração sérica de UA e da atividade da MPO.

O SO pode resultar de uma diminuição da capacidade antioxidante <sup>(5, 10)</sup>. Vários estudos de avaliação do estado redox em doentes com IC ou com outras patologias cardiovasculares mostraram uma redução das defesas antioxidantes sistémicas <sup>(34)</sup>. No entanto, também tem sido observado quer o aumento de algumas defesas antioxidantes, como a superóxido dismutase <sup>(35)</sup>, catalase <sup>(36)</sup> ou glutathione <sup>(35)</sup>, quer a ausência de alterações em marcadores antioxidantes plasmáticos <sup>(37)</sup>.

A avaliação da TAS proporciona uma análise integrada da ação dos vários antioxidantes plasmáticos ou séricos e pode ser vantajosa comparativamente com a quantificação de marcadores antioxidantes isolados, já que a interação entre antioxidantes fornece maior proteção relativamente a um composto antioxidante isolado <sup>(38)</sup>. Recentemente foi sugerida a utilidade da TAS como marcador clínico da gravidade de condições patológicas, como a sépsis <sup>(23)</sup>. Estes autores verificaram que a TAS encontrava-se aumentada nos doentes com estado clínico mais grave, e que o UA contribuía largamente para este aumento, ao contrário de outros antioxidantes, como a albumina ou a bilirrubina. Estes resultados são concordantes com os obtidos no nosso estudo, visto que os doentes com IC grave também apresentaram uma elevação significativa da TAS e do UA, mas não da albumina ou da bilirrubina. Apesar de não se ter verificado uma correlação significativa entre os valores de TAS e de UA, provavelmente devido ao ainda reduzido número de doentes analisados, o valor de p encontra-se próximo do nível de significância estatística e ambos os parâmetros apresentaram correlação significativa com a troponina, marcador de lesão miocárdica na IC <sup>(17)</sup>.

O UA é o produto final do metabolismo purinérgico, sendo a sua formação catalizada pela XO <sup>(39)</sup>. Na IC, a concentração de UA encontra-se aumentada, o que poderá dever-se quer ao aumento do catabolismo purinérgico causado pela hipóxia e apoptose associadas à patologia, quer à elevação da atividade da XO nesta condição <sup>(40)</sup>. A XO catalisa simultaneamente a produção de UA e de ROS, como o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e o superóxido, o que explica o aumento concomitante de UA e da produção de citocinas, disfunção endotelial e apoptose <sup>(41)</sup>. Isto torna o UA um marcador fiável de prognóstico e gravidade na IC <sup>(39)</sup>. O nosso estudo apoia esta hipótese visto que a concentração sérica de UA encontrava-se significativamente



aumentada nos doentes com IC grave, e apresentava correlação com o BNP e troponina, marcadores estabelecidos de gravidade da IC. No entanto, apesar da sua relação com a gravidade da doença, a produção de UA poderá ser importante para minimizar os efeitos deletérios das ROS, sequestrando-as. Além disso, a elevada abundância relativa de UA comparativamente com outros antioxidantes plasmáticos e a perda da enzima uricase no Homem fazem pensar que o UA tem uma função primária de defesa no nosso organismo <sup>(42, 43)</sup>.

Os nossos resultados sugerem ainda que o aumento da TAS ocorre paralelamente à diminuição da concentração de albumina plasmática. Num contexto de IC, a hipoalbuminemia pode resultar de hemodiluição, subnutrição, inflamação crónica, infeção, e proteinúria, entre outros <sup>(44)</sup>, estando associada a um mau prognóstico da doença. Pode também ser consequência da própria IC, devido à caquexia típica dos estadios terminais da doença <sup>(45)</sup>. A exacerbação paralela da hipoalbuminemia, da hiperuricemia e da TAS em doentes com IC sugere a possível utilidade de uma análise conjunta destes marcadores para estratificação do risco cardiovascular na IC. Além disso, como referido anteriormente, as correlações significativas do UA e da TAS com marcadores estabelecidos de IC evidenciam o valor prognóstico destes indicadores de SO. Apesar de outros autores terem proposto que a redução das defesas antioxidantes contribui para a patogénese de doenças cardiovasculares, o nosso estudo sugere que o agravamento da IC está associado a um aumento da capacidade antioxidante sistémica o que poderá justificar, pelo menos parcialmente, os resultados decepcionantes obtidos em ensaios clínicos com antioxidantes.

A MPO tem sido utilizada como marcador inflamatório e redox <sup>(21)</sup>. Esta enzima é libertada por neutrófilos ativados no decorrer de processos inflamatórios <sup>(46)</sup>, e utiliza o cloro

e  $\text{H}_2\text{O}_2$  como substratos para a formação de outras ROS, contribuindo para a fisiopatologia da IC <sup>(26)</sup>. Alguns estudos descrevem uma elevação da concentração plasmática de MPO nos estádios NYHA mais avançados de IC, o que poderá traduzir um aumento da ativação leucocitária, inflamação e SO <sup>(47)</sup>. No entanto, o aumento da concentração de uma enzima pode não refletir necessariamente o aumento da sua atividade. Por esse motivo, é importante avaliar também a atividade enzimática. Tanto quanto sabemos, este é o primeiro estudo que avalia a atividade da MPO na IC. Embora não tenhamos observado diferenças significativas na concentração da MPO, foi evidenciada uma maior atividade desta enzima nos doentes com IC grave. Isto poderá refletir uma maior biodisponibilidade de substrato para a enzima, nomeadamente de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , cuja relação com a fisiopatologia cardiovascular tem sido sublinhada nos últimos anos. Um estudo recente sugere que o UA pode funcionar também como substrato para a MPO, competindo com o cloro para a formação de radicais de UA <sup>(48)</sup>. Em concentrações fisiológicas, a competição entre o UA e o cloro é mínima, mas quando, por mecanismos patológicos, a concentração de UA aumenta, eleva-se também a competitividade entre os dois substratos para a MPO. No nosso estudo observou-se uma correlação positiva entre a atividade da MPO no plasma e a concentração sérica de UA. Estes resultados reforçam a interpretação de que a MPO utiliza o UA como substrato para a produção de ROS. Assim, a hiperuricemia associada à IC poderá contribuir para uma exacerbação dos efeitos adversos da MPO nesta patologia.

Fala-se em síndrome cardiorrenal quando uma lesão cardíaca leva a doença renal, e vice-versa, levando a um agravamento concomitante das funções dos dois órgãos <sup>(18)</sup>. A cistatina C tem sido utilizada como marcador da lesão renal, e pode encontrar-se aumentada quando um defeito cardíaco leva à disfunção do rim. Também se pensa que pode proteger o

miocárdio da ação de proteases <sup>(19)</sup>. No nosso estudo, os doentes com IC grave apresentaram uma elevação significativa da cistatina C plasmática, refletindo o declínio da função renal resultante do agravamento da IC. É sabido que o SO causa fibrose renal, vasoconstrição, apoptose e diminuição da natriurese, contribuindo para a insuficiência renal <sup>(49)</sup>. O aumento da excreção urinária de isoprostanos e/ou de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ocorre quando há SO no rim <sup>(20, 27)</sup>. No entanto, apesar de a excreção urinária de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e de isoprostanos ser tendencialmente mais elevada nos doentes com IC grave, não se observou uma diferença significativa entre os grupos. A ausência de diferenças no SO renal pode relacionar-se com o facto de muitos destes doentes serem tratados com IECAs ou antagonistas dos recetores da angiotensina II (ARAs). A redução da atividade do SRAA no rim pode ter atenuado o SO local <sup>(50)</sup> já que vias dependentes da angiotensina II induzem a formação de ROS <sup>(5)</sup>.

Vários estudos têm tentado estabelecer uma relação entre marcadores de SO e diversos indicadores de gravidade da IC. No nosso trabalho foram analisadas as correlações de dois marcadores estabelecidos de gravidade da IC, o BNP e a troponina, com os marcadores de atividade oxidante e antioxidante. A elevação significativa de BNP e troponina observada nos doentes com classe funcional NYHA III a IV, comparativamente com os doentes com classe NYHA I a II, valida a avaliação clínica e estratificação da população consoante a gravidade da doença. Como abordado anteriormente, neste estudo observámos apenas correlações significativas do UA com o BNP e ainda do UA ou da TAS com a troponina. O facto de não se terem verificado correlações com os restantes indicadores de SO pode significar que as alterações destes parâmetros não são específicas da síndrome clínica da IC. É sabido que muitos destes doentes apresentam co-morbilidades que

contribuem para o aumento de SO, tais como a aterosclerose, diabetes e hipertensão arterial <sup>(51)</sup>.

Vários fármacos usados na terapêutica da IC têm sido associados a efeitos antioxidantes. Por exemplo, alguns estudos sugerem uma superioridade terapêutica dos bloqueadores  $\beta$  carvedilol e nebivolol, que poderá estar relacionada com propriedades antioxidantes intrínsecas destes fármacos. Foram já demonstrados efeitos inibitórios do carvedilol na produção de ROS <sup>(29)</sup> e também a sua capacidade para captar e inativar espécies oxidantes. O nebivolol é também um bloqueador  $\beta$  com propriedades antioxidantes <sup>(31)</sup>. Apesar dos mecanismos supracitados, neste estudo não foram encontradas diferenças na função cardíaca e estado redox, para os bloqueadores  $\beta$  analisados. Contudo, nos doentes tratados com bloqueador  $\beta$  parece haver uma tendência para a diminuição dos marcadores de gravidade de IC e também de SO, como a atividade da MPO. O tratamento com bloqueadores  $\beta$  já foi previamente associado a uma diminuição da concentração de MPO em doentes com patologia coronária, sugerindo alguma atividade anti-inflamatória destes fármacos <sup>(52)</sup>.

O alopurinol pode também modificar o estado redox na IC. Muitos doentes com IC encontram-se medicados com este fármaco, embora para outras co-morbilidades, como a gota. A inibição da XO pelo alopurinol previne a formação de ROS, melhorando a função cardíaca e desacelerando o processo de disfunção endotelial, por aumentar a libertação de fatores de relaxamento derivados do endotélio <sup>(53)</sup>. Apesar destes dados, neste estudo não foram demonstrados efeitos significativos do alopurinol nos marcadores de IC e de SO. À semelhança do que aconteceu com os bloqueadores  $\beta$ , observou-se uma tendência para a

redução da atividade da MPO nos doentes tratados com alopurinol, o que reforça a interpretação de que o UA é um substrato desta enzima.

Na análise dos resultados deste estudo há que considerar algumas limitações, tais como o número ainda reduzido de doentes e a distribuição não equitativa da população quanto ao género, classes funcionais NYHA e terapêutica. De facto, a população apresentava um predomínio do género masculino e de doentes com IC ligeira. Além disso, não foi possível convocar doentes em classe NYHA IV, que provavelmente teriam alterações mais marcadas de SO. Há também que ter em conta que os bloqueadores  $\beta$  e o alopurinol não são os únicos fármacos suscetíveis de alterar o estado redox na IC. A aspirina, estatinas, IECAs e ARAs são frequentemente prescritos a doentes com IC e sabe-se que estes fármacos exercem efeitos antioxidantes diretos, ou inibição indireta da produção de ROS. Por último, como foi já referido, estes doentes apresentam frequentemente outras co-morbilidades que podem contribuir para o aumento do SO. Este facto pode dificultar a identificação de processos redox específicos da síndrome clínica da IC.

## **Conclusões:**

O agravamento da IC está associado a um aumento da capacidade antioxidante sistémica que provavelmente se deve à elevação também significativa do UA. A correlação positiva da TAS e do UA com a troponina evidencia o potencial valor prognóstico destes marcadores redox. Este estudo sugere ainda que a hiperuricemia exacerba os efeitos adversos da MPO na IC. A correlação significativa entre o UA e a atividade da MPO indica que o UA é um substrato desta enzima, contribuindo para o aumento da sua atividade nos doentes com IC grave.

Não foram evidenciados efeitos significativos dos bloqueadores  $\beta$  no estado redox dos doentes, nem vantagens no uso de bloqueadores  $\beta$  como o carvedilol, para o qual estão descritas propriedades antioxidantes. Também não foram demonstrados benefícios terapêuticos do alopurinol. No entanto, estes resultados poderão ter sido influenciados pelo tratamento concomitante destes doentes com outros fármacos suscetíveis de modificar o estado redox.

### **Conflito de interesses:**

O autor declara a não existência de qualquer tipo de conflito de interesses.

### **Agradecimentos:**

O autor gostaria de agradecer o apoio prestado pela Doutora Teresa Sousa, pela Dra. Marta Couto e pelo Professor Doutor António Albino Teixeira, do Departamento de Farmacologia e Terapêutica da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

## Bibliografia:

1. Ceia F, Fonseca C, Mota T et al. Epidemiology of heart failure in mainland Portugal: new data from the EPICA study. *Rev Port Cardiol*. 2004;23 Suppl 3:III15-22.
2. Longo DL. Harrison's principles of internal medicine. 18th ed. New York: McGraw-Hill; 2012.
3. Gomes MC, Ferreira A, Bettencourt P. Physiopathology of heart failure. *Rev Port Cardiol*. 2004;23 Suppl 2:II7-23.
4. Braunwald E. Biomarkers in heart failure. *N Engl J Med*. 2008; 358(20):2148-59.
5. Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest*. 2005; 115(3):500-8.
6. Hare JM, Stamler JS. NO/redox disequilibrium in the failing heart and cardiovascular system. *J Clin Invest*. 2005; 115(3):509-17.
7. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 301(6):H2181-90.
8. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res*. 2000;87(10):840-4.
9. Kuroda J, Sadoshima J. NADPH oxidase and cardiac failure. *J Cardiovasc Transl Res*. 2010; 3(4):314-20.
10. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*. 1997; 82(2):291-5.
11. Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2008; 295(4):C849-68.
12. Ungvari Z, Gupte SA, Recchia FA et al. Role of oxidative-nitrosative stress and downstream pathways in various forms of cardiomyopathy and heart failure. *Curr Vasc Pharmacol*. 2005; 3(3):221-9.
13. Kar S, Kavdia M. Modeling of biopterin-dependent pathways of eNOS for nitric oxide and superoxide production. *Free Radic Biol Med*. 2011; 51(7):1411-27.
14. Tanaka K, Honda M, Takabatake T. Redox regulation of MAPK pathways and cardiac hypertrophy in adult rat cardiac myocyte. *J Am Coll Cardiol*. 2001; 37(2):676-85.
15. Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. *Circulation*. 2007; 115(8):949-52.
16. Palazzuoli A, Gallotta M, Quatrini I et al. Natriuretic peptides (BNP and NT-proBNP): measurement and relevance in heart failure. *Vasc Health Risk Manag*. 2010; 6:411-8.
17. Hudson MP, O'Connor CM, Gattis WA et al. Implications of elevated cardiac troponin T in ambulatory patients with heart failure: a prospective analysis. *Am Heart J*. 2004; 147(3):546-52.
18. Ronco C, Ronco F. Cardio-renal syndromes: a systematic approach for consensus definition and classification. *Heart Fail Rev*. 2011.
19. Xie L, Terrand J, Xu B et al. Cystatin C increases in cardiac injury: a role in extracellular matrix protein modulation. *Cardiovascular research*. 2010; 87(4):628-35.
20. Basu S. Fatty acid oxidation and isoprostanes: oxidative strain and oxidative stress. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2010; 82(4-6):219-25.
21. Tang WH, Tong W, Troughton RW et al. Prognostic value and echocardiographic determinants of plasma myeloperoxidase levels in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 49(24):2364-70.
22. Doehner W, Anker SD. Xanthine oxidase inhibition for chronic heart failure: is allopurinol the next therapeutic advance in heart failure? *Heart*. 2005; 91(6):707-9.
23. Chuang CC, Shiesh SC, Chi CH et al. Serum total antioxidant capacity reflects severity of illness in patients with severe sepsis. *Crit Care*. 2006; 10(1):R36.
24. Ardanaz N, Pagano PJ. Hydrogen peroxide as a paracrine vascular mediator: regulation and signaling leading to dysfunction. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2006; 231(3):237-51.

25. Cai H. Hydrogen peroxide regulation of endothelial function: origins, mechanisms, and consequences. *Cardiovasc Res*. 2005; 68(1):26-36.
26. Malle E, Furtmuller PG, Sattler W et al. Myeloperoxidase: a target for new drug development? *Br J Pharmacol*. 2007; 152(6):838-54.
27. Jin C, Hu C, Polichnowski A et al. Effects of renal perfusion pressure on renal medullary hydrogen peroxide and nitric oxide production. *Hypertension*. 2009; 53(6):1048-53.
28. Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur J Heart Fail*. 2008; 10(10):933-89.
29. Dandona P, Ghanim H, Brooks DP. Antioxidant activity of carvedilol in cardiovascular disease. *J Hypertens*. 2007; 25(4):731-41.
30. Garbin U, Fratta Pasini A, Stranieri C et al. Effects of nebivolol on endothelial gene expression during oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. *Mediators Inflamm*. 2008;2008:367590.
31. Evangelista S, Garbin U, Pasini AF et al. Effect of DL-nebivolol, its enantiomers and metabolites on the intracellular production of superoxide and nitric oxide in human endothelial cells. *Pharmacol Res*. 2007; 55(4):303-9.
32. Goldhaber JJ, Ji S, Lamp ST et al. Effects of exogenous free radicals on electromechanical function and metabolism in isolated rabbit and guinea pig ventricle. Implications for ischemia and reperfusion injury. *J Clin Invest*. 1989; 83(6):1800-9.
33. Hill MF, Singal PK. Right and left myocardial antioxidant responses during heart failure subsequent to myocardial infarction. *Circulation*. 1997; 96(7):2414-20.
34. Kuklinska AM, Mroczko B, Musial WJ et al. High-sensitivity C-reactive protein and total antioxidant status in patients with essential arterial hypertension and dyslipidemia. *Adv Med Sci* 2009; 54(2):225-32.
35. Weinbrenner T, Cladellas M, Isabel Covas M et al. High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 2003; 168(1):99-106.
36. Bagatini MD, Martins CC, Battisti V et al. Oxidative stress versus antioxidant defenses in patients with acute myocardial infarction. *Heart Vessels*. 2011; 26(1):55-63.
37. Mak S, Newton GE. The oxidative stress hypothesis of congestive heart failure: radical thoughts. *Chest*. 2001; 120(6):2035-46.
38. Ghiselli A, Serafini M, Natella F et al. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med*. 2000; 29(11):1106-14.
39. Tamariz L, Harzand A, Palacio A et al. Uric acid as a predictor of all-cause mortality in heart failure: a meta-analysis. *Congest Heart Fail*. 2011; 17(1):25-30.
40. Cappola TP, Kass DA, Nelson GS et al. Allopurinol improves myocardial efficiency in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 2001; 104(20):2407-11.
41. Terada LS, Guidot DM, Leff JA et al. Hypoxia injures endothelial cells by increasing endogenous xanthine oxidase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992; 89(8):3362-6.
42. Alvarez-Lario B, Macarron-Vicente J. Uric acid and evolution. *Rheumatology (Oxford)*. 2010; 49(11):2010-5.
43. Kirschbaum B. Renal regulation of plasma total antioxidant capacity. *Med Hypotheses*. 2001; 56(6):625-9.
44. Horwich TB, Kalantar-Zadeh K, MacLellan RW et al. Albumin levels predict survival in patients with systolic heart failure. *Am Heart J*. 2008; 155(5):883-9.
45. Arques S, Ambrosi P. Human serum albumin in the clinical syndrome of heart failure. *J Card Fail*. 2011; 17(6):451-8.



46. Loria V, Dato I, Graziani F et al. Myeloperoxidase: a new biomarker of inflammation in ischemic heart disease and acute coronary syndromes. *Mediators Inflamm*. 2008; 2008:135625.
47. Tang WH, Brennan ML, Philip K et al. Plasma myeloperoxidase levels in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol*. 2006; 98(6):796-9.
48. Meotti FC, Jameson GN, Turner R et al. Urate as a physiological substrate for myeloperoxidase: implications for hyperuricemia and inflammation. *J Biol Chem*. 2011; 286(15):12901-11.
49. Cowley AW, Jr. Renal medullary oxidative stress, pressure-natriuresis, and hypertension. *Hypertension*. 2008; 52(5):777-86.
50. Kobori H, Nangaku M, Navar LG et al. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease. *Pharmacol Rev*. 2007; 59(3):251-87.
51. Khan SR. Is oxidative stress, a link between nephrolithiasis and obesity, hypertension, diabetes, chronic kidney disease, metabolic syndrome? *Urol Res*. 2012; 40(2):95-112.
52. Ndrepepa G, Braun S, Schomig A et al. Impact of therapy with statins, beta-blockers and angiotensin-converting enzyme inhibitors on plasma myeloperoxidase in patients with coronary artery disease. *Clin Res Cardiol*. 2011; 100(4):327-33.
53. Farquharson CA, Butler R, Hill A et al. Allopurinol improves endothelial dysfunction in chronic heart failure. *Circulation*. 2002; 106(2):221-6.

## Legendas das figuras:

*Figura 1:* Concentração plasmática de BNP, troponina e cistatina C na IC ligeira a moderada e na IC grave. Resultados apresentados como média  $\pm$  S.E.M., n=57 (BNP), n=59 (troponina), n=47 (cistatina C), \*p<0,05 vs. IC ligeira a moderada.

*Figura 2:* Capacidade antioxidante sistêmica na IC ligeira a moderada e na IC grave. Resultados apresentados como média  $\pm$  S.E.M., n=30 (TAS), n=57 (UA), n=34 (bilirrubina), n=35 (albumina), \*p<0,05 vs. IC ligeira a moderada.

*Figura 3:* Concentração e atividade da MPO na IC ligeira a moderada e na IC grave. Resultados apresentados como média  $\pm$  S.E.M., n=34 (concentração MPO), n=34 (atividade MPO), \*p<0,05 vs. IC ligeira a moderada.

*Figura 4:* Excreção urinária de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e isoprostanos na IC ligeira a moderada e na IC grave. Resultados apresentados como média  $\pm$  S.E.M., n=29 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), n=51 (isoprostanos), \*p<0,05 vs. IC ligeira a moderada.

*Figura 5:* Efeito dos bloqueadores  $\beta$  na concentração plasmática de BNP, troponina e cistatina C em doentes com IC. Resultados apresentados como média  $\pm$  S.E.M., n=58 (BNP), n=59 (troponina), n=59 (cistatina C).

*Figura 6:* Efeito dos bloqueadores  $\beta$  nos marcadores de SO em doentes com IC. Resultados apresentados como média  $\pm$  S.E.M., n=30 (TAS), n=59 (UA), n=34 (concentração MPO), n=34 (atividade MPO), n=29 ( $H_2O_2$ ), n=51 (isoprostanos).

*Figura 7:* Efeito do alopurinol na concentração plasmática de BNP, troponina e cistatina C em doentes com IC. Resultados apresentados como média  $\pm$  S.E.M., n=52 (BNP), n=59 (troponina), n=48 (cistatina C).

*Figura 8:* Efeito do alopurinol nos marcadores de SO em doentes com IC. Resultados expressos como média  $\pm$  S.E.M., n=30 (TAS), n=60 (UA), n=34 (concentração MPO), n=34 (atividade MPO), n=29 ( $H_2O_2$ ), n=51 (isoprostanos).

Tabela 1:

**Dados demográficos da população em estudo:**

<b>Parâmetro</b>	<b>n (frequência relativa)</b>
Idade (anos)	69,98 ±1,57 (média ± S.E.M)
Peso (kg)	76,50±1,84 (média ± S.E.M)
Gênero:	
Masculino	38 (63%)
Feminino	22 (37%)
Classe NYHA:	
I	17 (28%)
I/II e II	19 (32%)
II/III e III	16 (27%)
III/IV	8 (13%)
Etiologia:	
Hipertensiva	8 (13%)
CMD idiopática	10 (17%)
CMD secundária	8 (13%)

Isquêmica	23 (38%)
Valvular	3 (5%)
Desconhecida	8 (13%)
Bloqueador $\beta$	
Sim	50 (83%)
Carvedilol	30 (50%)
Bisoprolol	14 (23%)
Nebivolol	5 (8%)
Desconhecido	1 (2%)
Não	10 (17%)
Alopurinol	
Sim	15 (25%)
Não	45 (75%)

---

NYHA – *New York Heart Association*; CMD – Cardiomiopatia Dilatada

Tabela 2:

**Agrupamento dos dados demográficos conforme gravidade da IC.**

Parâmetro	IC ligeira (NYHA I, I/II)	IC grave (NYHA II/III, III, III/IV)
Nº de doentes	36 (60%)	24 (40%)
Idade (anos)	67,06 ( $\pm 1,99$ )	74,38 ( $\pm 2,31$ )
Peso (kg)	78,50 ( $\pm 2,39$ )	68,75 ( $\pm 2,51$ )
Género		
Masculino	27 (71%)	11 (29%)
Feminino	9 (41%)	13 (59%)
Etiologia		
Hipertensiva	6 (75%)	2 (25%)
CMD idiopática	4 (40%)	6 (60%)
CMD secundária	6 (75%)	2 (25%)
Isquémica	13 (57%)	10 (43%)
Valvular	1 (33%)	2 (67%)
Desconhecida	6 (75%)	2 (25%)
Terapêutica com bloqueador $\beta$		

Sim	30 (60%)	20 (40%)
Carvedilol	20 (67%)	10 (33%)
Bisoprolol	7 (50%)	7 (50%)
Nebivolol	2 (40%)	3 (60%)
Desconhecido	1 (100%)	0 (0%)
Não	6 (60%)	4 (40%)
Terapêutica com alopurinol		
Sim	8 (53%)	7 (47%)
Não	28 (62%)	17 (38%)
CMD – Cardiomiopatia Dilatada		

*Tabela 3:*

**Correlações entre TAS e UA, bilirrubina e albumina**

	<b>n</b>	<b>Coefficiente de Correlação</b>	<b>p</b>
TAS vs. UA	30	r (Spearman) = 0,234	p = 0,206
TAS vs. Log UA	30	r (Pearson) = 0,322	p = 0,083
TAS vs. Bilirrubinas	26	r (Pearson) = 0,125	p = 0,543
TAS vs. Albumina	27	r (Pearson) = -0,360	p = 0,066

TAS – Capacidade antioxidante total; UA – ácido úrico; Log - logaritmo



Tabela 4:

**Correlações entre marcadores de IC e de SO.**

	<b>n</b>	<b>Coefficiente de correlação</b>	<b>p</b>
Troponina vs. BNP	58	r (Spearman) = 0,473	p < 0,001
Cistatina C vs. BNP	48	r (Spearman) = 0,428	p = 0,002
Cistatina C vs. Troponina	47	r (Spearman) = 0,335	p = 0,021
TAS vs. BNP	30	r (Spearman) = 0,295	p = 0,113
UA vs. BNP	58	r (Spearman) = 0,463	p < 0,001
Concentração MPO vs. BNP	33	r (Spearman) = -0,040	p = 0,825
Atividade MPO vs. BNP	33	r (Spearman) = -0,049	p = 0,785
Atividade MPO vs. UA	32	r (Spearman) = 0,392	p = 0,027
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (urina) vs. BNP	29	r (Spearman) = 0,121	p = 0,532
Isoprostanos (urina) vs. BNP	51	r (Spearman) = 0,117	p = 0,414
TAS vs. Troponina	30	r (Spearman) = 0,369	p = 0,045
UA vs. Troponina	57	r (Spearman) = 0,517	p < 0,001
Concentração MPO vs. Troponina	33	r (Spearman) = -0,075	p = 0,680
Atividade MPO vs. Troponina	33	r (Spearman) = 0,293	p = 0,097

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (urina) vs. Cistatina C	25	r (Spearman) = 0,137	p = 0,514
Isoprostanos (urina) vs. Cistatina C	35	r (Spearman) = -0,183	p = 0,293

---

BNP – Peptídeo Natriurético tipo B; TAS – capacidade antioxidante total; UA – ácido úrico;  
MPO – mieloperoxidase;

Tabela 5:

**Comparação efeito do carvedilol, bisoprolol e nebivolol nos marcadores de SO**

	Carvedilol (média ± S.E.M.)	Bisoprolol (média ± S.E.M.)	Nebivolol (média ± S.E.M.)
BNP (pg/mL)	576,4 ± 125,2	866,6 ± 268,0	907,9 ± 368,1
Troponina (ng/mL)	0,041 ± 0,015	0,012 ± 0,004	0,043 ± 0,025
Cistatina C (mg/L)	1,21 ± 0,09	1,25 ± 0,12	n.d.
TAS (μmol Trolox/mL)	3,29 ± 0,19	3,25 ± 0,23	n.d.
UA (mg/L)	72,2 ± 3,1	72,7 ± 5,8	75,8 ± 12,0
Concentração MPO (ng/mL)	36,12 ± 7,83	29,42 ± 6,34	n.d.
Atividade MPO (μmol/min/mg MPO)	17,90 ± 3,94	21,66 ± 5,25	n.d.
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (urina) (μmol/mg creat)	0,015 ± 0,002	0,016 ± 0,003	n.d.
Isoprostanos (urina) (ng/mg creatinina)	1,94 ± 0,31	1,97 ± 0,35	1,91 ± 0,41

BNP – peptídeo natriurético tipo B; TAS – capacidade antioxidante total; UA – ácido úrico;

MPO – mieloperoxidase; n.d. - não determinado

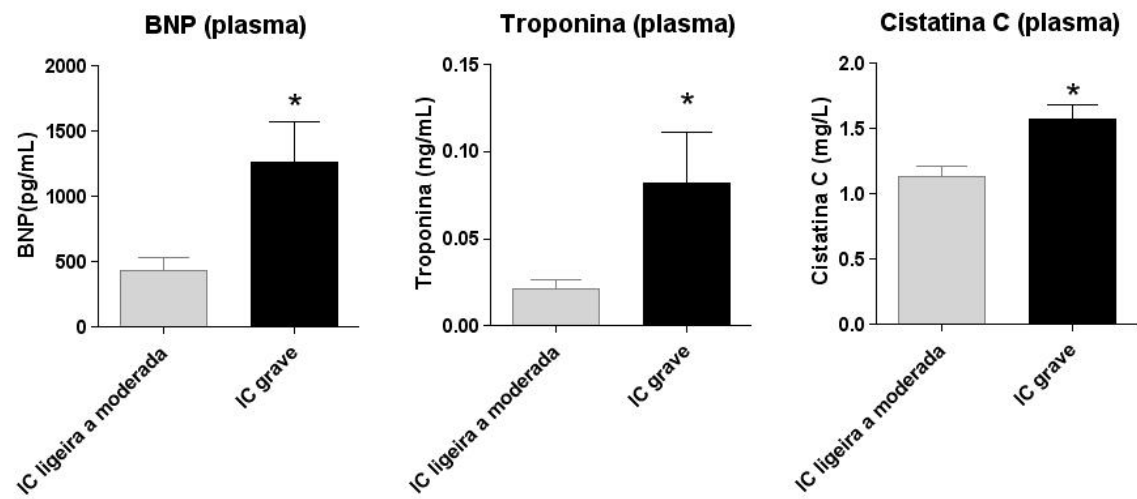


Figura 1

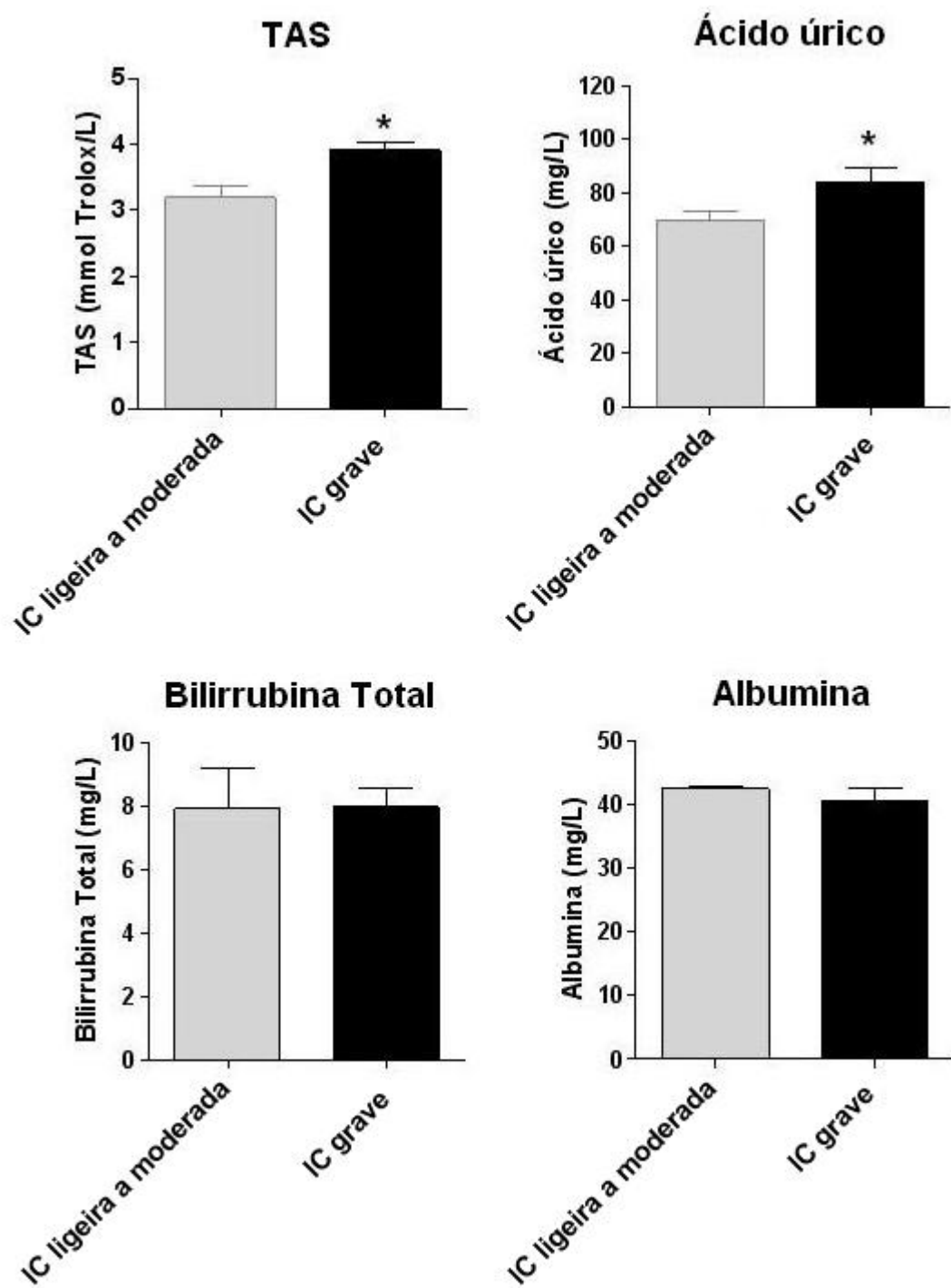
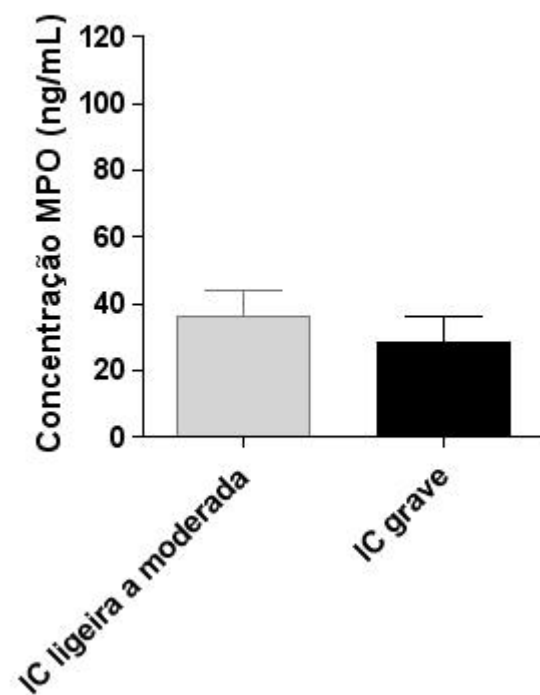
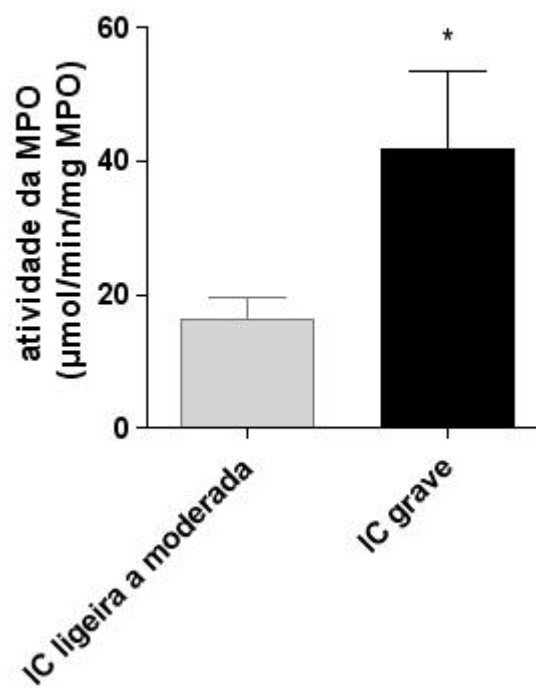


Figura 2

**Concentração MPO (plasma)**



**Atividade MPO (plasma)**



*Figura 3*

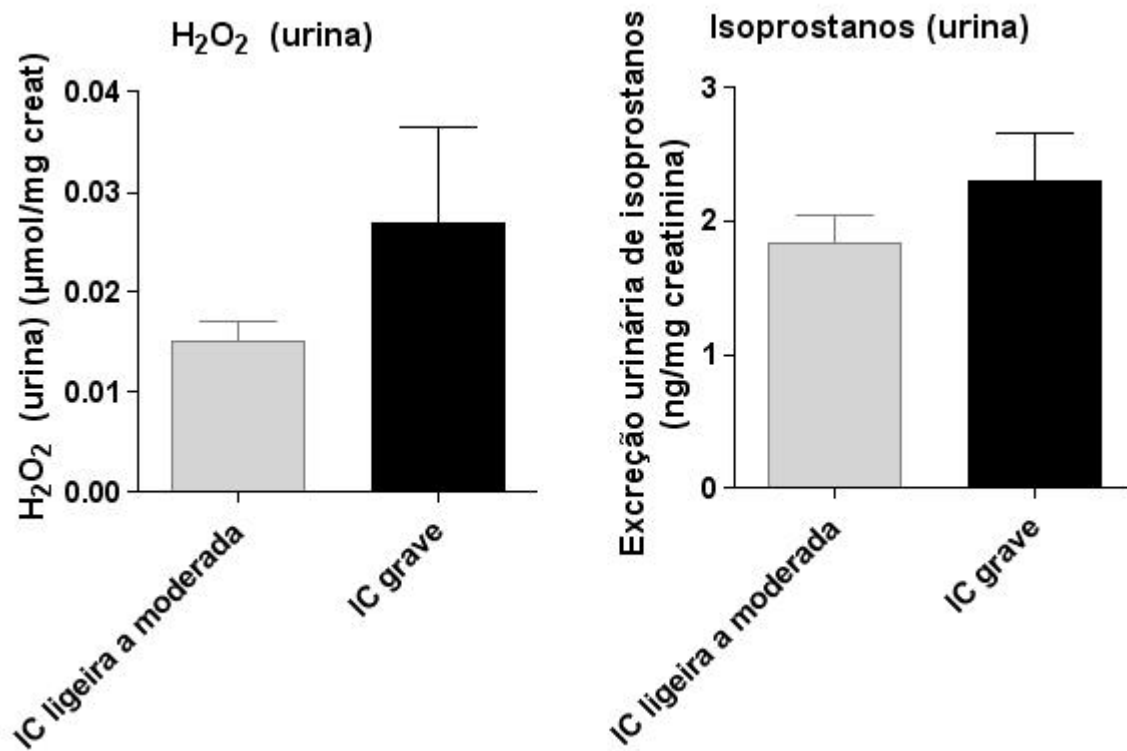


Figura 4

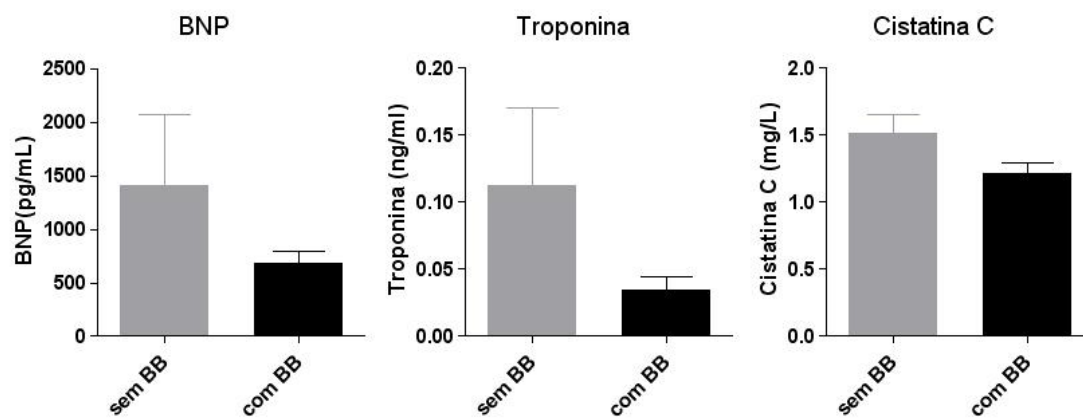


Figura 5



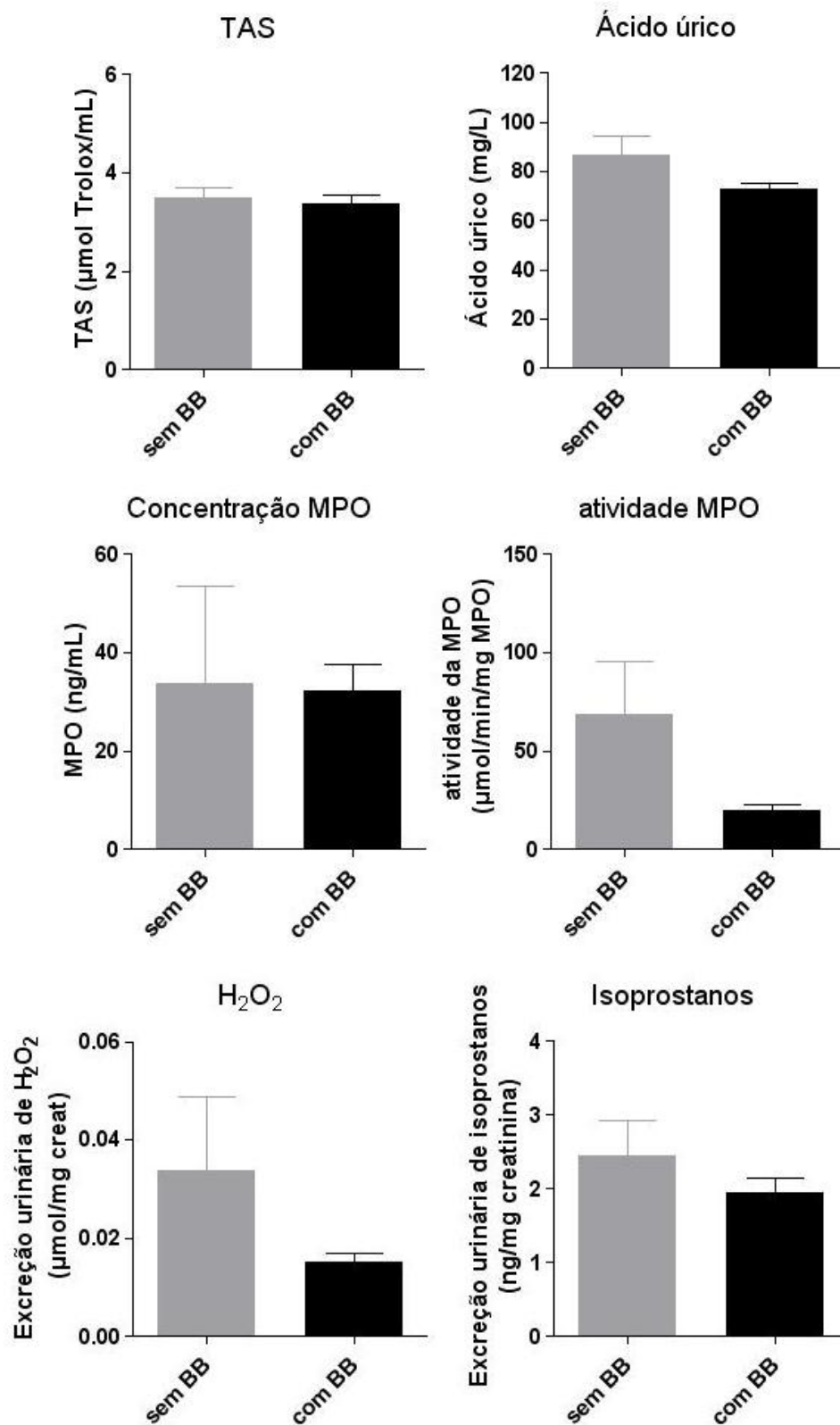


Figura 6

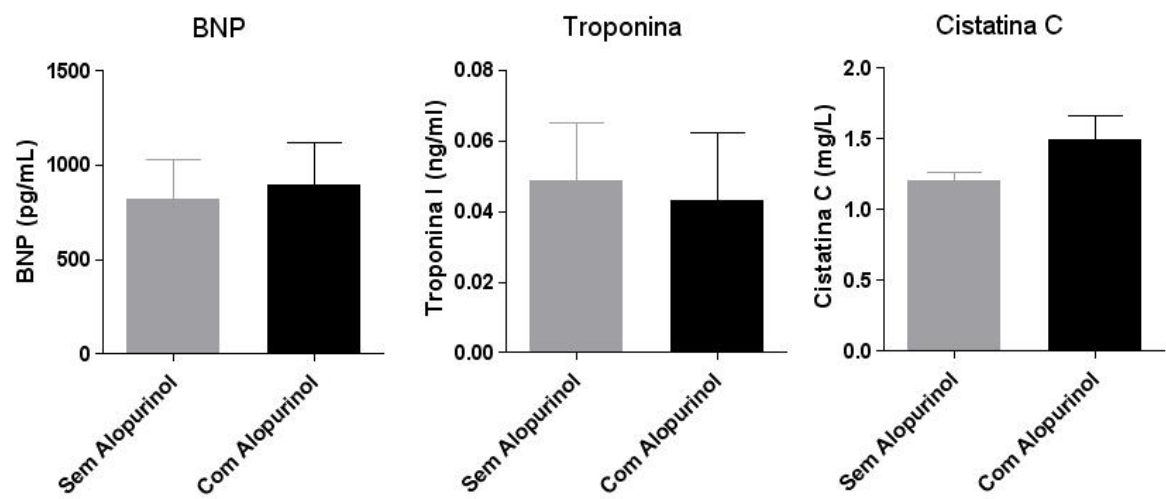


Figura 7

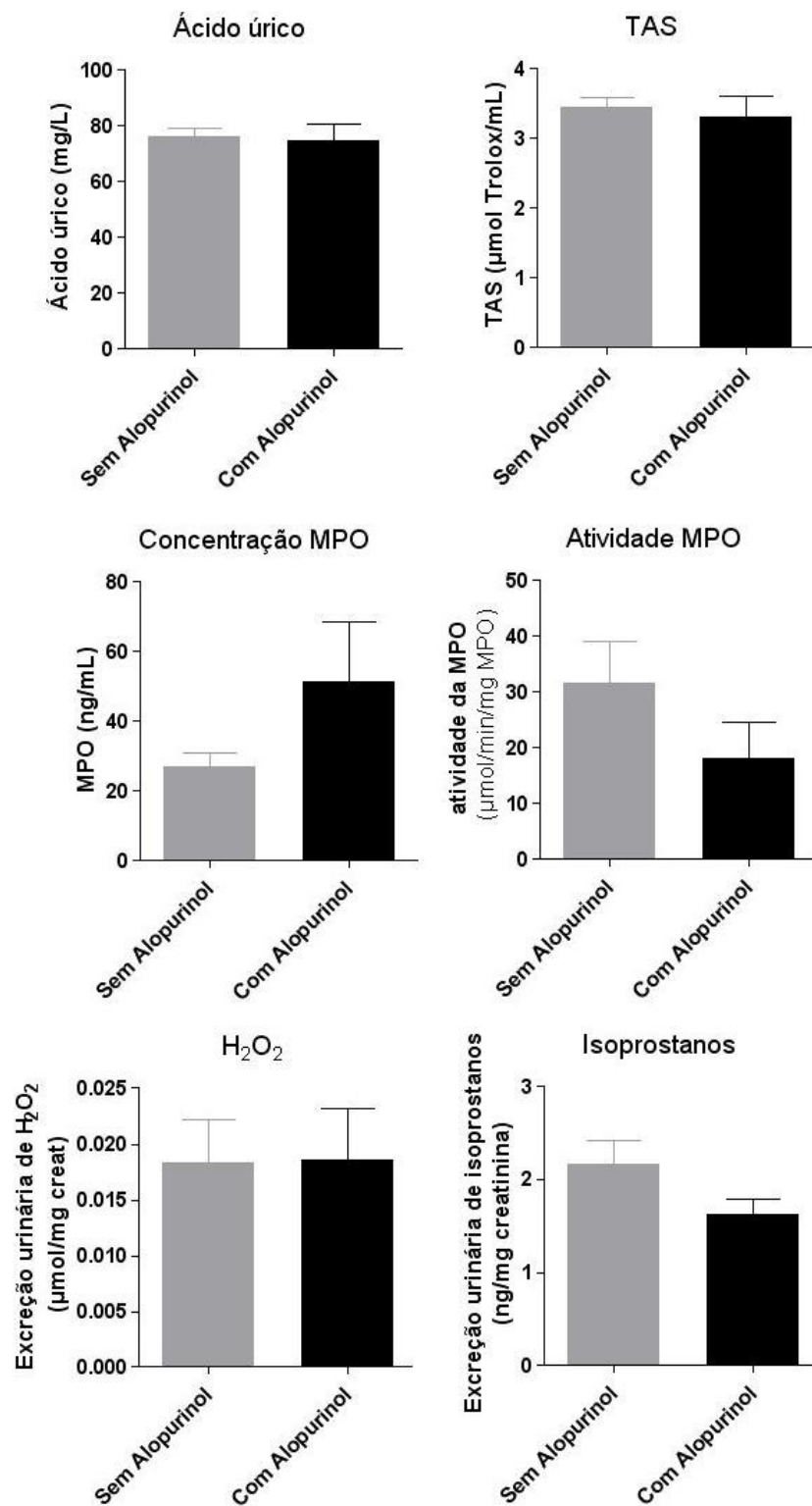


Figura 8

# **Anexo**

**Normas da Revista Portuguesa de Cardiologia**

# Normas de publicação da Revista Portuguesa de Cardiologia

A Revista Portuguesa de Cardiologia, órgão oficial da Sociedade Portuguesa de Cardiologia, é uma publicação científica internacional destinada ao estudo das doenças cardiovasculares.

Publica artigos em português na sua edição em papel e em português e inglês na sua edição online, sobre todas as áreas da Medicina Cardiovascular. Se os artigos são publicados apenas em inglês, esta versão surgirá simultaneamente em papel e online. Inclui regularmente artigos originais sobre investigação clínica ou básica, revisões temáticas, casos clínicos, imagens em cardiologia, comentários editoriais e cartas ao editor. Para consultar as edições online deverá aceder através do link [www.revportcardiol.org](http://www.revportcardiol.org).

Todos os artigos são avaliados antes de serem aceites para publicação por peritos designados pelos Editores (peer review). A submissão de um artigo à Revista Portuguesa de Cardiologia implica que este nunca tenha sido publicado e que não esteja a ser avaliado para publicação noutra revista.

Os trabalhos submetidos para publicação são propriedade da Revista Portuguesa de Cardiologia e a sua reprodução total ou parcial deverá ser convenientemente autorizada. Todos os autores deverão enviar a Declaração de Originalidade, conferindo esses direitos à RPC, na altura em que os artigos são aceites para publicação.

## Envio de manuscritos

Os manuscritos para a Revista Portuguesa de Cardiologia são enviados através do link <http://www.ees.elsevier.com/repc>. Para enviar um manuscrito, é apenas necessário aceder ao referido link e seguir todas as instruções que surgem.

## Responsabilidades Éticas

Os autores dos artigos aceitam a responsabilidade definida pelo Comité Internacional dos Editores das Revistas Médicas (consultar [www.icmje.org](http://www.icmje.org)).

Os trabalhos submetidos para publicação na Revista Portuguesa de Cardiologia devem respeitar as recomendações internacionais sobre investigação clínica (Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial, revista recentemente) e com animais de laboratório (Sociedade Americana de Fisiologia). Os estudos aleatorizados deverão seguir as normas CONSORT.

## Informação sobre autorizações

A publicação de fotografias ou de dados dos doentes não devem identificar os mesmos. Em todos os casos, os autores devem apresentar o consentimento escrito por parte do doente que autorize a sua publicação, reprodução e divulgação em papel e na Revista Portuguesa de Cardiologia. Do mesmo modo os autores são responsáveis por obter as respectivas autorizações para reproduzir na Revista Portuguesa de Cardiologia todo o material (texto, tabelas ou figuras) previamente publicado. Estas autorizações devem ser solicitadas ao autor e à editora que publicou o referido material.

## Conflito de interesses

Cada um dos autores deverá indicar no seu artigo se existe ou não qualquer tipo de Conflito de Interesses.

## Declaração de originalidade

O autor deverá enviar uma declaração de originalidade. Ver anexo I

## Protecção de dados

Os dados de carácter pessoal que se solicitam vão ser tratados num ficheiro automatizado da Sociedade Portuguesa de Cardiologia (SPC) com a finalidade de gerir a publicação do seu artigo na Revista Portuguesa de Cardiologia (RPC). Salvo indique o contrário ao enviar o artigo, fica expressamente autorizado que os dados referentes ao seu nome, apelidos, local de trabalho e correio electrónico sejam publicados na RPC, bem como no portal da SPC ([www.spc.pt](http://www.spc.pt)) e no portal online [www.revportcardiol.org](http://www.revportcardiol.org), com o intuito de dar a conhecer a autoria do artigo e de possibilitar que os leitores possam comunicar com os autores.

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Todos os manuscritos deverão ser apresentados de acordo com as normas de publicação. Pressupõe-se que o primeiro autor é o responsável pelo cumprimento das normas e que os restantes autores conhecem, participam e estão de acordo com o conteúdo do manuscrito.

### 1. Artigos Originais

Apresentação do documento:

- Com espaço duplo, margens de 2,5 cm e páginas numeradas.
- Não deverão exceder 5.000 palavras, contadas desde a primeira à última página, excluindo as tabelas.
- Consta de dois documentos: primeira página e manuscrito
- O manuscrito deve seguir sempre a mesma ordem: a) resumo estruturado em português e palavras-chave; b) resumo estruturado em inglês e palavras-chave; c) quadro de abreviaturas em português e em inglês; d) texto; e) bibliografia; f) legendas das figuras; g) tabelas (opcional) e h) figuras (opcional)-

### Primeira página

Título completo (menos de 150 caracteres) em português e em inglês.

Nome e apelido dos autores pela ordem seguinte: nome próprio, seguido do apelido (pode conter dois nomes)

Proveniência (Serviço, Instituição, cidade, país) e financiamento caso haja.

Endereço completo do autor a quem deve ser dirigida a correspondência, fax e endereço electrónico.

Faz-se referência ao número total de palavras do manuscrito (excluindo as tabelas).

### Resumo estruturado

O resumo, com um máximo de 250 palavras, está dividido em quatro partes: a) Introdução e objectivos; b) Métodos; c) Resultados e d) Conclusões.

Deverá ser elucidativo e não inclui referências bibliográficas nem abreviaturas (excepto as referentes a unidades de medida).

Inclui no final três a dez palavras-chave em português e em inglês. Deverão ser preferencialmente seleccionadas a partir da lista publicada na Revista Portuguesa de Cardiologia, oriundas do Medical Subject

Headings (MeSH) da National Library of Medicine, disponível em: [www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html](http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html).

O resumo e as palavras-chave em inglês devem ser apresentados da mesma forma.

### Texto

Deverá conter as seguintes partes devidamente assinaladas: a) Introdução; b) Métodos; c) Resultados; d) Discussão e e) Conclusões. Poderá utilizar subdivisões adequadamente para organizar cada uma das secções.

As abreviaturas das unidades de medida são as recomendadas pela RPC (ver Anexo II).

Os agradecimentos situam-se no final do texto.

### Bibliografia

As referências bibliográficas deverão ser citadas por ordem numérica no formato 'superscript', de acordo com a ordem de entrada no texto.

As referências bibliográficas não incluem comunicações pessoais, manuscritos ou qualquer dado não publicado. Todavia podem estar incluídos, entre parêntesis, ao longo do texto.

São citados abstracts com menos de dois anos de publicação, identificando-os com [abstract] colocado depois do título.

As revistas médicas são referenciadas com as abreviaturas utilizadas pelo Index Medicus: List of Journals Indexed, tal como se publicam no número de Janeiro de cada ano. Disponível em: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/citmatch\\_help.html#journalLists](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/citmatch_help.html#journalLists).

O estilo e a pontuação das referências deverão seguir o modelo Vancouver 3.

**Revista médica:** Lista de todos os autores. Se o número de autores for superior a três, incluem-se os três primeiros, seguidos da abreviatura latina et al. Exemplo:

17. Sousa PJ, Gonçalves PA, Marques H et al. Radiação na AngioTC cardíaca; preditores de maior dose utilizada e sua redução ao longo do tempo. Rev Port cardiol, 2010; 29:1655-65

**Capítulo em livro:** Autores, título do capítulo, editores, título do livro, cidade, editora e páginas. Exemplo:

23. Nabel EG, Nabel GJ. Gene therapy for cardiovascular disease. En: Haber E, editor. Molecular cardiovascular medicine. New York: Scientific American 1995. P79-96.

Livro: Cite as páginas específicas. Exemplo:

30. Cohn PF. Silent myocardial ischemia and infarction. 3rd ed. New York: Mansel Dekker; 1993. P. 33.

**Material electrónico:** Artigo de revista em formato electrónico. Exemplo:

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts it an advisory role. Am J Nurs. [serie na internet.] 2002 Jun citado 12 Ago 2002;102(6): [aprox. 3] p. Disponível em: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Vvawatch.htm>

.A Bibliografia será enviada como texto regular, nunca como nota de rodapé. Não se aceitam códigos específicos dos programas de gestão bibliográfica.

### 1. Figuras

As figuras correspondentes a gráficos e desenhos são enviadas no formato TIFF ou JPEG de preferência, com uma resolução nunca inferior a 300 dpi e utilizando o negro para linhas e texto. São alvo de numeração árabe de acordo com a ordem de entrada no texto.

- A grafia, símbolos, letras, etc, deverão ser enviados num tamanho que, ao ser reduzido, os mantenha claramente legíveis. Os detalhes especiais deverão ser assinalados com setas contrastantes com a figura.

- As legendas das figuras devem ser incluídas numa folha aparte. No final devem ser identificadas as abreviaturas empregues por ordem alfabética.

- As figuras não podem incluir dados que dêem a conhecer a proveniência do trabalho ou a identidade do paciente. As fotografias das pessoas devem ser feitas de maneira que estas não sejam identificadas ou incluir-se-á o consentimento por parte da pessoa fotografada.

### Tabelas

São identificadas com numeração árabe de acordo com a ordem de entrada no texto.

Cada tabela será escrita a espaço duplo numa folha aparte.

- Incluem um título na parte superior e na parte inferior são referidas as abreviaturas por ordem alfabética.

- O seu conteúdo é auto-explicativo e os dados que incluem não figuram no texto nem nas figuras.

### 2. Cartas ao Editor

Devem ser enviadas sob esta rubrica e referem-se a artigos publicados na Revista. Serão somente consideradas as cartas recebidas no prazo de oito semanas após a publicação do artigo em questão.

- Com espaço duplo, com margens de 2,5 cm.

- O título (em português e em inglês), os autores (máximo quatro), proveniência, endereço e figuras devem ser especificados de acordo com as normas anteriormente referidas para os artigos originais.

- Não podem exceder as 800 palavras.

- Podem incluir um número máximo de duas figuras. As tabelas estão excluídas.

### 3. Casos Clínicos

Devem ser enviados sob esta rubrica.

- A espaço duplo com margens de 2,5 cm.

- O título (em português e em inglês) não deve exceder 10 palavras

Os autores (máximo oito) proveniência, endereço e figuras serão especificados de acordo com as normas anteriormente referidas para os artigos originais.

O texto explicativo não pode exceder 3.000 palavras e contém informação de maior relevância. Todos os símbolos que possam constar nas imagens serão adequadamente explicados no texto.

Contém um número máximo de 4 figuras e pode ser enviado material suplementar, como por exemplo vídeos clips.

### 4. Imagens em Cardiologia

- A espaço duplo com margens de 2,5 cm.

- O título (em português e em inglês) não deve exceder oito palavras

- Os autores (máximo seis), proveniência, endereço e figuras serão especificados de acordo com as normas anteriormente referidas para os artigos originais.

- O texto explicativo não pode exceder as 250 palavras e contém informação de maior relevância, sem referências bibliográficas. Todos os símbolos que possam constar nas imagens serão adequadamente explicados no texto.

- Contém um número máximo de quatro figuras.

### 5. Material adicional na WEB

A Revista Portuguesa de Cardiologia aceita o envio de material electrónico adicional para apoiar e melhorar a apresentação da sua investigação científica. Contudo, unicamente se considerará para publicação o material electrónico adicional directamente relacionado com o conteúdo do artigo e a sua aceitação final dependerá do critério do Editor. O material adicional aceite não será traduzido e publicar-se-á electronicamente no formato da sua recepção.

Para assegurar que o material tenha o formato apropriado recomendamos o seguinte:

	Formato	Extensão	Detalhes
Texto	Word	.doc ou docx	Tamanho máximo 300 Kb
Imagem	JPG	.jpg	Tamanho máximo 10MB
Audio	MP3	.mp3	Tamanho máximo 10MB
Vídeo	WMV	.wmv	Tamanho máximo 30MB

Os autores deverão submeter o material no formato electrónico através do EES como arquivo multimédia juntamente com o artigo e conceber um título conciso e descritivo para cada arquivo.

Do mesmo modo, este tipo de material deverá cumprir também todos os requisitos e responsabilidades éticas gerais descritas nessas normas.

O Corpo Redactorial reserva-se o direito de recusar o material electrónico que não julgue apropriado.

## ANEXO I

### DECLARAÇÃO

Declaro que autorizo a publicação do manuscrito:

Ref.<sup>a</sup> .....

Título .....

.....

.....

.....

do qual sou autor ou c/autor.

Declaro ainda que presente manuscrito é original, não foi objecto de qualquer outro tipo de publicação e cedo a inteira propriedade à Revista Portuguesa de Cardiologia, ficando a sua reprodução, no todo ou em parte, dependente de prévia autorização dos editores.

Nome dos autores:

.....

.....

.....

Assinaturas:

## ANEXO II

### Símbolos, abreviaturas de medidas ou estatística

Designação	Português	Inglês
Ampere	A	A
Ano	ano	yr
Centímetro quadrado	cm <sup>2</sup>	cm <sup>2</sup>
Contagens por minuto	cpm	cpm
Contagens por segundo	cps	cps
Curie	Ci	Ci
Electrocardiograma	ECG	ECG
Equivalente	Eq	Eq
Grau Celsius	°C	°C
Grama	g	g
Hemoglobina	Hb	Hb
Hertz	Hz	Hz
Hora	h	h
Joule	J	J
Litro	L ou l	l ou L
Metro	m	m
Minuto	min	min
Molar	M	M
Mole	mol	mol
Normal (concentração)	N	N
Ohm	Ω	Ω
Osmol	osmol	osmol
Peso	peso	WT
Pressão parcial de CO <sub>2</sub>	pCO <sub>2</sub>	pCO <sub>2</sub>
Pressão parcial de O <sub>2</sub>	pO <sub>2</sub>	pO <sub>2</sub>
Quilograma	kg	kg
Segundo	s	sec
Semana	Sem	Wk
Sistema nervoso central	SNC	CNS
Unidade Internacional	UI	IU
Volt	V	V
Milivolt	mV	mV
Volume	Vol	Vol
Watts	W	W

### Estatística:

Coeficiente de correlação	r	r
Desvio padrão (standard)	DP	SD
Erro padrão (standard) da média	EPM	SEM
Graus de liberdade	gl	df
Média	X	X
Não significativa	NS	NS
Número de observações	n	n
Probabilidade	p	p
Teste «t» de Student	teste t	t test